

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. Januar 2002 (24.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/06836 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 33/543

19, 07646 Schlöben (DE). DANZ, Norbert [DE/DE];
Pforte 2, 07747 Jena (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/02776

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR;
Gostritzer Strasse 61-63, 01217 Dresden (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. Juli 2001 (19.07.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 35 101.8 19. Juli 2000 (19.07.2000) DE
101 12 455.4 9. März 2001 (09.03.2001) DE

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Aus-
nahme von US): FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT
ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN
FORSCHUNG E.V. [DE/DE]; Leonrodstrasse 54,
80636 München (DE).

Veröffentlicht:
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KARTHE, Wolfgang
[DE/DE]; Schweizerhöhenweg 3a, 07745 Jena (DE).
WALDHÄUSL, Ralf [DE/DE]; Tatzendpromenade 30,
07745 Jena (DE). BRÄUER, Andreas [DE/DE]; Rabis

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: DEVICE FOR CARRYING OUT BIOCHEMICAL FLUORESCENCE TESTS

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR DURCHFÜHRUNG VON BIOCHEMISCHEN FLUORESZENZTESTS

(57) Abstract: The invention relates to a device for carrying out biochemical fluorescence tests with which the different biochemical interactions can be detected. The aim of the invention is to be able to economically detect a very large number of individual samples with a high level of sensitivity and to obtain a high local resolution. To these ends, the invention enlists the use of a device with which linearly polarized light of a laser diode is directed onto a plate-shaped support via an optical configuration comprised of at least one polarization beam splitter, of a $\lambda/4$ plate and of a focussing optical element. In addition to binary optically detectable information structures, a multitude of fluorophore-marked samples are also discretely arranged on the support that rotates around an axis. Light reflected on the information structures is directed onto an optical detector via the optical configuration in order to detect the information, and fluorescent light emitted by the fluorophore-marked samples is directed onto an optical detector for the fluorescent light via a spectral filter that separates in a wavelength-selective and spatial manner.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Durchführung von biochemischen Fluoreszenztests, mit der die unterschiedlichen biochemischen Wechselwirkungen detektiert werden können. Mit Hilfe der Erfindung sollen eine sehr große Anzahl einzelner Proben kostengünstig und mit hoher Empfindlichkeit detektiert werden können und außerdem eine hohe Ortsauflösung erreicht werden. Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe mit einer Vorrichtung gelöst, bei der linear polarisiertes Licht einer Laserdiode durch eine aus mindestens einem Polarisationsstrahlteiler, einer $\lambda/4$ Platte und einem fokussierenden optischen Element bestehenden optischen Anordnung auf einen plattenförmigen Träger gerichtet ist. Auf dem sich um eine Achse rotierenden Träger sind zusätzlich zu binären, optisch detektierbaren Informationsstrukturen auch eine Mehrzahl fluorophormarkierte Proben diskret angeordnet. An den Informationsstrukturen reflektiertes Licht wird durch die optische Anordnung zur Erfassung der Informationen auf einen optischen Detektor gerichtet und von den fluorophormarkierten Proben emittiertes Fluoreszenzlicht wird über einen wellenlängenselektiven und räumlich separierenden Spektralfilter auf einen optischen Detektor für das Fluoreszenzlicht gerichtet.

WO 02/06836 A2

BEST AVAILABLE COPY

Vorrichtung zur Durchführung von biochemischen
Fluoreszenztests

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Durchfüh-
5 rung von biochemischen Fluoreszenztests, mit der die
unterschiedlichen biochemischen Wechselwirkungen de-
tektiert werden können. Dabei können verschiedene an
sich bekannte sogenannte Assayformate, beispielsweise
Fluoreszenzimmunotests sowie Untersuchungen für die
10 Entschlüsselung des Genoms von Pflanzen oder Tieren
durchgeführt werden. Ganz besonders vorteilhaft kann
die Erfindung für die Untersuchung einer sehr großen
Probenanzahl in kurzer Zeit vorgenommen werden, wie
dies bei den sogenannten „Screening-Anwendungen“ ge-
15 wünscht ist.

Im bekannten Stand der Technik wird hierfür die Ver-
wendung von rotierenden Trägermedien für eine relativ
große Probenanzahl vorgeschlagen und die Auswertung
20 und Durchführung der Untersuchungen soll mit Hilfe

bekannter Technik und hier insbesondere mittels CD- bzw. DVD-Technik erfolgen.

5 Solche Lösungsvorschläge sind in WO 98/12559 A1, WO 99/35499 A1 und WO 00/26677 A1 angesprochen.

10 Dabei betrifft der Inhalt von WO 00/26677 A1 im Wesentlichen die Modifizierung von an sich bekannten CD oder DVD und deren Herstellungsverfahren. Dort ist ansatzweise zwar auf die Möglichkeit der Durchführung von Tests mit Fluoreszenzanregung und Messung des an-
15 geregten Fluoreszenzlichtes angedeutet. Explizit sind aber lediglich Lösungsansätze beschrieben worden, bei denen kolloidale Partikel, beispielsweise Gold an einen Partner eines solchen Bindungssystems zum Nach-
20 weis erfolgter Bindung von mindestens zwei solcher Partner, wie dies beispielsweise bekannte Rezeptor-Liganden-Systeme sind, eingesetzt werden. Dadurch kann das infolge kolloidalen Partikel geänderte Reflexions- und Absorptionsverhalten, das an so gebundenen Molekülen auftritt, genutzt und entsprechende Aussagen, gegebenenfalls auch in quantitativer Form durch entsprechende optische Detektion gewonnen werden.

25 Wird dagegen die in diesem Gebiet häufig genutzte Fluoreszenzanalysetechnik eingesetzt, muß die Detektion des Fluoreszenzlichtes wellenlängenselektiv mit hoher Empfindlichkeit und insbesondere mit sehr hoher
30 Ortsauflösung gemessen werden, wie das mit der an sich bekannten CD- bzw. DVD-Technik optisch nicht ohne weiteres möglich ist.

35 Dabei sollen aber, die solche Systeme bereits aufweisenden Vorteile, nämlich die hohe Geschwindigkeit der Signalerfassung und insbesondere die Möglichkeit der

quasi selbstregelnden Selbstpositionierung der Anregungs- und Empfangselemente mit Hilfe auf solchen CD bzw. DVD gespeicherten Informationen, in üblicher Weise mit „Tracking“ bezeichneter Form mit genutzt werden können.

Es ist daher Aufgabe der Erfindung, eine Vorrichtung zur Durchführung von biochemischen Fluoreszenztests vorzuschlagen, mit der eine sehr große Anzahl einzelner Proben kostengünstig und mit hoher Empfindlichkeit, insbesondere hohem Ortsauflösungsvermögen detektierbar ist.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe mit einer Vorrichtung gemäß Anspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungsformen und Weiterbildungen der Erfindung können mit den in den untergeordneten Ansprüchen genannten Merkmalen erreicht werden.

Die Erfindung greift dabei aus dem Stand der Technik bekannte Lösungsansätze auf, was insbesondere auf Erkenntnisse und auch technische Elemente zutrifft, wie sie zumindest für das Auslesen von Informationen von CD- oder DVD benutzt werden. Dabei werden optische Elemente zum Erfassen verschiedener Informationen und zusätzlich zur Detektion von, von fluorophormarkierten Proben emittierten Fluoreszenzsignalen, durch laterale Bewegung entlang einer radial nach außen gerichteten Achse, in Bezug zur Rotationsachse eines solchen um eine Rotationsachse rotierenden plattenförmigen Trägers bewegt, um die gewünschten Informationen und die Fluoreszenz-Testergebnisse mit der gewünschten Positionsgenauigkeit zu gewinnen.

Bei den erfindungsgemäß zu verwendenden plattenförmigen Trägern können Kreisringformen, aber auch andere

geometrische Gestaltungen benutzt werden. Bei den Trägern soll die Aufgabe bzw. die Aufnahme diskret anzuordnender einzelner fluorophormarkierter Proben möglich sein. Die fluorophormarkierten Proben können auf einer, aber auch auf beiden Oberflächen eines plattenförmigen Trägers mit geeigneten Mitteln appliziert werden. So kann die Oberfläche eines solchen Trägers mikrostrukturiert werden, wobei neben anderen bekannten Strukturierungsverfahren auch ein solches, wie es in der nicht vorveröffentlichten DE 100 12 793 beschrieben ist und auf deren Offenbarungsgehalt hiermit vollinhaltlich Bezug genommen werden soll, zurückgegriffen werden.

Es besteht aber auch die Möglichkeit, einen plattenförmigen entsprechenden Träger so auszubilden, dass die einzelnen fluorophormarkierten Proben innerhalb des Trägers angeordnet sind. Hierfür können von außen befüllbare Hohlräume oder Kanäle ausgebildet sein, wobei auf konkrete Ausführungsformen bei der Beschreibung von Ausführungsbeispielen zurückzukommen sein wird.

Für die erfindungsgemäße Vorrichtung kann ein im Wesentlichen optisch modifiziertes an sich bekanntes CD- bzw. DVD-Gerät benutzt werden. Dieses verfügt über eine Laserdiode, mit der linear polarisiertes Licht parallel zur Rotationsachse des rotierenden plattenförmigen Trägers auf dessen Oberfläche gerichtet wird. Das Licht der Laserdiode wird über eine optische Anordnung, die mindestens aus einem Polarisationsstrahlteiler, einer $\lambda/4$ Platte und einem fokussierenden optischen Element besteht, auf die Oberfläche des Trägers gerichtet. Vorzugsweise wird eine Laserdiode eingesetzt, mit deren Licht Fluoreszenz zumindest eines entsprechend ausgewählten Fluorophors

in fluorophormarkierten Proben angeregt werden kann.

Im Träger, der vorteilhaft zumindest teilweise optisch transparent sein sollte, sind binäre, optisch detektierbare Informationsstrukturen vorhanden, mit denen zumindest die jeweiligen Ortskoordinaten zweidimensional erfasst und für die Steuerung der Bewegung und die orts aufgelöste Messung der Fluoreszenzsignale genutzt werden können. Mit Hilfe des in unterschiedlicher Form von diesen Informationsstrukturen reflektierten Lichtes können mit einem optischen Detektor die entsprechenden Informationen erfasst werden, wobei je nach Ausbildung der Informationsstruktur die Lichtabsorption einer solchen Informationsstruktur oder auch eine entsprechend hervorgerufene Phasenverschiebung des reflektierten Lichtes zur Erfassung der Einzelinformationen genutzt werden kann.

Zusätzlich zur Erfassung von Fluoreszenzsignalen der einzelnen fluorophormarkierten Proben wird mindestens ein zweiter optischer Detektor für das Fluoreszenzlicht verwendet, wobei im Strahlengang des Fluoreszenzlichtes vor diesem optischen Detektor ein wellenlängenselektiv und räumlich separierender Spektralfilter angeordnet sein kann. Vorteilhaft kann ein solches Spektralfilter ein dichroitischer Strahlteiler sein.

Zur Gewinnung zumindest der Positionsinformationen von der Informationsstruktur wird das von der Laserdiode ausgehende linear polarisierte Licht mit der $\lambda/4$ Platte in zirkular polarisiertes Licht umgewandelt und das zirkular polarisierte Licht auf die Oberfläche des Trägers gerichtet. Das von der Informationsstruktur reflektierte Licht gelangt als eben-

falls zirkular polarisiertes Licht wieder auf die $\lambda/4$ Platte und wird wieder in linear polarisiertes Licht umgewandelt, wobei die Polarisationssebene des reflektierten Lichtes, gegenüber der Polarisationssebene des von der Laserdiode ausgehenden Lichtes um 90° gedreht ist. Dadurch kann das reflektierte Licht mit dem Polarisationsstrahlteiler umgelenkt und auf den optischen Detektor gerichtet werden, so dass eine klare Trennung der mit dem reflektierten Licht gewonnenen Informationssignale vom von der Laserdiode ausgehenden Licht erreichbar ist.

Zur Verringerung des unerwünschten Fremdlichteinflusses ist es vorteilhaft, zwischen dem Spektralfilter und dem optischen Detektor für das Fluoreszenzlicht ein zusätzliches optisches Filter anzuordnen. Hierfür kann ein auf die jeweilige Wellenlänge des Fluoreszenzlichtes abgestimmter Band- oder Kantenfilter eingesetzt werden.

Insbesondere bei Verwendung eines Trägers, der zumindest in Bereichen, in denen fluorophormarkierte Proben angeordnet sind, ganz oder teilweise optisch transparent ist, besteht die Möglichkeit den optischen Detektor für das Fluoreszenzlicht und den entsprechend erforderlichen wellenselektiv und räumlich separierenden Spektralfilter auf der Seite des Trägers anzuordnen, die der Seite, auf der die Laserdiode und die optische Anordnung angeordnet sind, gegenüberliegt.

In diesem Fall sollten die auf beiden Seiten des Trägers angeordneten optischen Elemente aber synchron bewegt werden können, was beispielsweise durch eine starre mechanische Ankopplung erreicht werden kann.

In bestimmten Fällen kann es aber auch günstig sein, sämtliche optischen Elemente an einer Seite des Trägers anzuordnen, so dass diese gemeinsam entlang der radial nach außen gerichteten Achse hin- und herbewegt werden können. Dabei kann der Spektralfilter, mit dessen Hilfe das Fluoreszenzlicht auf den optischen Detektor für das Fluoreszenzlicht, wellenlängenselektiv gerichtet wird, in die optische Anordnung integriert werden, so dass das von den Informationsstrukturen vom Träger ausgehende reflektierte Licht auch auf diesen Spektralfilter trifft, jedoch von diesem unbeeinflusst bleibt.

Es kann aber auch zusätzlich zur Laserdiode mindestens eine zweite möglichst monochromatische Lichtquelle, die ebenfalls eine entsprechende Laserdiode, aber auch eine LED sein kann, eingesetzt werden. Diese Lichtquelle strahlt ausschließlich Licht zur Fluoreszenzanzregung eines oder mehrerer entsprechend ausgewählter/s Fluorophors/e. Das Licht dieser zweiten Lichtquelle kann über einen wellenlängenselektiv und räumlich separierenden Spektralfilter (dichroitischer Strahlteiler) auf den Träger und demzufolge auch auf die fluorophormarkierten Proben gerichtet werden. Dabei können die optischen Elemente der optischen Anordnung, die zur Gewinnung der Informationssignale von der Informationsstruktur durch entsprechende Überlagerung des Lichtes der Laserdiode und der zweiten Lichtquelle mit genutzt werden.

Mit einer solchen Anordnung ist es möglich, Fluoreszenztests mit mindestens zwei unterschiedlichen Fluorophoren, bei denen Fluoreszenz mit unterschiedlichen Wellenlängen angeregt werden kann, durchzuführen, wenn die erste Laserdiode ebenfalls Licht mit geeigneter Wellenlänge abstrahlt. Da sowohl die Informati-

onsstrukturen, wie auch die fluorophormarkierten Proben in unterschiedlichen Ebenen im bzw. am Träger angeordnet sein können, ist es vorteilhaft, die Brennweite des fokussierenden optischen Elementes, das
5 dann in Form eines Objektives mit veränderlicher Brennweite ausgebildet sein kann, entsprechend zu variieren, so dass der Fokus in der jeweils gewünschten Ebene liegt und die gewünschten Informationen und insbesondere die Fluoreszenzsignale mit sehr hoher
10 Ortsauflösung erfasst werden können.

Ganz besonders vorteilhaft kann mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung die Erfassung sowohl der optischen Informationen von den Informationsstrukturen, wie
15 auch die Erfassung der Fluoreszenzsignale konfokal erfolgen.

Zur Sicherung der gewünschten hohen Empfindlichkeit, insbesondere für das Fluoreszenzlicht sollten als geeigneter optischer Detektor Photo multipliiert Tubes (PMT), Avalanche Photodioden oder besonders empfindliche Fotodioden mit Vorverstärker eingesetzt werden.
20

Vorteilhaft können zusätzliche Kollimatoren und Kondensoren im Strahlengang der unterschiedlichen Lichtarten angeordnet werden, um je nach Bedarf eine Aufweitung und parallele Ausrichtung oder eine Fokussierung, wie sie insbesondere für das auf die optischen Detektoren zu richtende Licht gewünscht ist, zu erreichen.
25
30

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, das Fluoreszenzlicht nicht unmittelbar über Spektralfilter und Filter auf einen optischen Detektor für Fluoreszenzlicht zu richten, sondern Fluoreszenzlicht mit entsprechend geeigneten fokussierenden Linsen in eine
35

Lichtleitfaser einzukoppeln und über die Lichtleitfaser auf den optischen Detektor für das Fluoreszenzlicht zu richten. Dadurch kann der Aufwand für Optik und Elektronik durch räumliche Trennung verringert und die Erfassung der Fluoreszenzsignale räumlich getrennt, beispielsweise auf einer fest installierten Platine erfolgen.

Dadurch besteht die Möglichkeit, Fluoreszenzlicht unterschiedlicher Wellenlängen durch die Lichtleitfaser auf einen entsprechenden Spektralfilter (z.B. dichroitischer Strahlteiler) und von diesem jeweils Fluoreszenzlicht mit unterschiedlicher Wellenlänge auf jeweils einen eigenen optischen Detektor zu richten, so dass auch so der Einsatz von mindestens zwei unterschiedlichen Fluorophoren zur Markierung möglich ist. Durch Zwischenschaltung von mindestens einem Y-Teiler, der an der Lichtleitfaser vorhanden ist oder einer Reihenanordnung von mindestens zwei dichroitischen Strahlteilern, kann die Anzahl der einsetzbaren Fluorophore, die bei entsprechend unterschiedlichen Wellenlängen Fluoreszenz Licht emittieren relativ einfach erhöht werden.

Vorteilhaft kann an die ohnehin erforderliche elektrische Auswert- und Steuereinheit, wie sie beispielsweise bereits an einem kommerziell erhältlichen CD- bzw. DVD-Gerät vorhanden ist, durch relativ einfache Anpassung auch eine Dispensiereinrichtung für die Proben angeschlossen werden, so dass die einzelnen Proben diskret und sehr genau orts aufgelöst auf einen Träger aufgebracht oder in entsprechend im Träger ausgebildete Kavitäten oder Kanäle eingebracht werden können, wobei sich die einfache Erfassung der jeweiligen Ortskoordinaten mit Hilfe der von den Informationsstrukturen gewinnbaren Informationen vor-

teilhaft auswirkt.

Bei einer solchen Dispensiereinrichtung kann beispielsweise auf das an sich bekannte Piezoelektrische „Ink-jet“ Prinzip, mit dem eine sehr genaue Positions- und Dosiergenauigkeit erreicht werden kann, zurückgegriffen werden.

Wird dann ein Träger, der z.B. in Form einer beschreibbaren CD- bzw. DVD-Verbindung mit einem entsprechenden Basisgerät eingesetzt, können entsprechende den einzelnen Proben zugeordnete Informationen durch entsprechende Beeinflussung der Informationsstruktur hinterlegt und bei der Durchführung der Tests genutzt werden.

Mit der erfindungsgemäßen Lösung können neben den mittels der Informationsstrukturen lesbaren binären Informationen auch biochemische Wechselwirkungen durch die Fluoreszenzanregung parallel und auch seriell erfasst und für die Auswertung der einzelnen Tests an einzelnen fluorophormarkierten Proben benutzt werden.

Dabei kann sowohl eine sehr große Anzahl von einzelnen Proben mit einem Träger genutzt und gleichzeitig für jede einzelne Probe mit einem sehr kleinen Probenvolumen gearbeitet werden, die bei der Durchführung der Tests auch sehr genau lokalisiert werden können. Durch die möglichen hohen Aperturen, mit denen auch die angeregte Fluoreszenz einzelner gebundener Biomoleküle erfassbar sind, sind sehr empfindliche Nachweise möglich, die auch quantitative Aussagen zulassen.

Des weiteren sind auch prinzipiell neben der Fluores-

5 zenzanalyse andere infolge auftretender biochemischer Wechselwirkungen sich ändernde optische Größen, wie beispielsweise Veränderungen der Reflexion und Absorption zusätzlich detektierbar, so dass das Testspektrum erweitert werden kann.

10 Solche sich ändernde Größen können gegebenenfalls ohne zusätzliche Veränderungen an der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit dem optischen Detektor, der ohnehin die Informationen, die in der Informationsstruktur des Trägers beinhaltet, erfasst werden.

15 Nachfolgend soll die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen näher beschrieben werden.

Dabei zeigen:

20 Figur 1 den schematischen Aufbau eines Beispiels einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;

Figur 2 ein zweites Beispiel mit zusätzlichen Kollimatoren und Kondensoren;

25 Figur 3 ein drittes Beispiel mit gegenüber dem Beispiel nach Figur 2 veränderter Anordnung optischer Elemente;

30 Figur 4 ein weiteres Beispiel mit gegenüber den Beispielen nach Figur 2 und 3 veränderter Anordnung der optischen Elemente;

Figur 5 ein Beispiel mit einer zusätzlichen Lichtquelle zur Fluoreszenzanregung;

35 Figur 6 ein Beispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Lichtleitfaser zur Fluoreszenzanregung;

reszenzlichtführung;

- Figur 7 ein Beispiel für eine erfindungsgemäße Vor-
richtung mit separater Optik zur Fluores-
zenzanregung und Detektion;
- Figur 8 ein Beispiel eines in einer erfindungsgemä-
ßen Vorrichtung einsetzbaren Trägers;
- Figur 9 ein weiteres Beispiel eines solchen Trä-
gers;
- Figur 10 ein Beispiel eines Trägers;
- Figur 11 ein Beispiel eines zusammengesetzten Trä-
gers;
- Figur 12 ein weiteres Beispiels eines zusammenge-
setzten Trägers;
- Figur 13 ein Beispiel eines zusammengesetzten Trä-
gers mit in zwei Ebenen angeordneten Infor-
mationsstrukturen;
- Figur 14 ein weiteres Beispiel eines zusammengesetz-
ten Trägers mit in zwei Ebenen angeordneten
Informationsstrukturen;
- Figur 15 ein weiteres Beispiel eines Trägers mit
zwei in unterschiedlichen Ebenen angeordne-
ten Informationsstrukturen;
- Figur 16 ein Beispiel eines zusammengesetzten Trä-
gers mit einer Informationsstruktur in ei-
ner Ebene;

Figur 17 ein weiteres Beispiel eines zusammengesetzten Trägers mit einer in einer Ebene angeordneten Informationsstruktur;

5 Figur 18 in stark schematisierter Form einen Aufbau, wie er bei einem Beispiel gemäß Figur 7 einsetzbar ist und

10 Figur 19 den prinzipiellen Aufbau einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit zusätzlicher Dispensiereinrichtung.

15 Bei Vorrichtungen, wie sie in den Figuren 1 bis 7 gezeigt sind, können Laserdioden 21 oder andere Lichtquellen 29 eingesetzt werden, deren Licht Wellenlängen aufweist, mit denen Fluoreszenz an sich bekannter Fluorophore angeregt werden kann. Bevorzugte Wellenlängen sind z.B. 635 nm, 650 nm und 780 nm, wobei hierfür bereits Laserdioden 21 verfügbar sind.

20 Wie in den Figuren 1 bis 6 gezeigt, kann in einer erfindungsgemäßen Vorrichtung eine optische Anordnung A eingesetzt werden, mit der linear polarisiertes Licht einer Laserdiode 21 auf bzw. auch in einen plattenförmigen Träger 1 fokussiert werden kann.

30 Dabei wird das Licht der Laserdiode 21, die lateral, radial in Bezug zur Rotationsachse des Trägers 1 (nicht dargestellt), selbstverständlich gemeinsam mit der optischen Anordnung A hin- und herbewegt werden kann, so dass in Verbindung mit der Rotation des Trägers 1 die gesamte Trägerfläche abgescannt werden kann.

35 Das linear polarisierte Licht der Laserdiode 21 wird durch einen Polarisationsstrahlteiler 22, im hier ge-

zeigten Beispiel ein Doppelprisma, wobei die eine Basisfläche eines Prismas zusätzlich mit einer λ -Lang-Pass-Beschichtung versehen sein kann, gerichtet. Wobei die λ -Lang-Pass-Beschichtung unter Berücksichtigung der Wellenlänge der Laserdiode 21 und/oder von Lichtquellen 29 bzw. der Anordnung des Polarisationsstrahlteilers 22 im optischen Aufbau erforderlich sein kann.

Nachfolgend ist bei diesem Beispiel ein wellenlängen-selektiv und räumlich separierender Strahlteiler 26 angeordnet, auf dessen Funktion noch nachfolgend eingegangen wird. Im Nachgang dazu ist eine $\lambda/4$ Platte 23 angeordnet, mit der das linear polarisierte Licht in zirkular polarisiertes Licht umgewandelt wird. Nachfolgend an die $\lambda/4$ Platte 23 ist ein fokussierendes optisches Element 24 angeordnet, mit dem das Licht auf die Oberfläche des Trägers 1 oder in das Innere des Trägers 1 fokussiert werden kann. Vorteilhaft kann die Position dieses fokussierenden Elementes 24, wie mit dem in vertikaler Richtung eingezeichneten Doppelpfeil angedeutet, verändert werden, so dass sich die Fokuslage verändern lässt. Dadurch ist es möglich, dass Licht nach Bedarf auf eine Ebene, in der eine Informationsstruktur 3, 4 oder eine fluorophormarkierte Probe angeordnet ist, zu fokussieren.

Das von der Informationsstruktur 3, 4 mittels dort ausgebildeter, sogenannter „Pits oder Lands“ reflektierte Licht ist Träger von binären Informationen, die in einer elektronischen Auswerte- und Steuereinheit digital erfasst und verarbeitet werden können.

Das von der Informationsstruktur 3, 4 reflektierte Licht gelangt dann wieder über das fokussierende op-

tische Element 24 zur $\lambda/4$ Platte 23, wo es wieder linear polarisiert wird. Dabei liegt die Polarisations-
ebene des reflektierten Lichtes um 90° gedreht gegen-
über dem von der Laserdiode 21 linear polarisiertem
5 abgestrahlten Licht vor. Durch die Veränderung der
Polarisationsebene ist es möglich, über den Polarisationsstrahlteiler 22 das reflektierte Licht zu separieren und, wie in Figur 1 deutlich erkennbar, auf
den optischen Detektor 25, der bevorzugt eine Qua-
10 drantendiode ist, richten.

Wird mit dem Licht der Laserdiode 21 Fluoreszenz in
einer vormarkierten Probe angeregt, gelangt das emittierte Fluoreszenzlicht durch das fokussierende opti-
15 sche Element 21, die $\lambda/4$ Platte 23 zum Spektralfilter
26, mit dem auch eine räumliche Trennung des Fluoreszenzlichtes erreicht werden soll. Auch der Spektralfilter 26 ist hier als Doppelprisma dargestellt und
es soll hierfür bevorzugt ein dichroitischer Strahl-
20 teiler eingesetzt werden, um das Fluoreszenzlicht zu
separieren und auf den optischen Detektor 27 für das
Fluoreszenzlicht zu richten. Das Fluoreszenzlicht
bleibt, da es nicht polarisiert ist, von der $\lambda/4$
Platte 23 unbeeinflusst.

25 Zur Unterdrückung von Fremdlichteinflüssen ist ein
zusätzliches Filter 28 vor den optischen Detektor 27
für das Fluoreszenzlicht angeordnet, so dass das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert werden kann.

30 Das in Figur 2 gezeigte Beispiel einer erfindungs-
gemäßen Vorrichtung unterscheidet sich vom Beispiel
nach Figur 1 lediglich in der zusätzlichen Verwendung
eines Kollimators 32 und zusätzlicher Kondensoren 33,
35 wobei letztere das Licht auf die optischen Detektoren
25 und 27 fokussieren.

Bei dem in Figur 3 gezeigten Beispiel sind lediglich der Polarisationsstrahlteiler 22 und der Spektralfilter 26 und dementsprechend auch die optischen Detektoren 25 und 27 in Bezug zur Laserdiode 21 vertauscht.

Mit dem Beispiel nach Figur 4 soll verdeutlicht werden, dass die Lichtführung des Lichtes der Laserdiode 21 in anderer Form erfolgen kann. Dabei wird das Licht der Laserdiode 21 zuerst parallel zur Oberfläche des Trägers 1 abgestrahlt und mittels des Spektralfilter 26 um 90° in Richtung auf den Träger 1 umgelenkt werden kann. Der Spektralfilter 26 ist dann mit einer nicht polarisierten λ -Lang-Pass-Beschichtung versehen.

Mit einer solchen Anordnung der optischen Elemente kann der zur Verfügung stehende Raum im Inneren eines Gerätes gegebenenfalls besser genutzt werden.

In Figur 5 ist ein Beispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt, bei der eine zusätzliche Lichtquelle 29, die, wie bereits im allgemeinen Teil der Beschreibung erwähnt, ebenfalls eine geeignete Laserdiode sein kann, vorhanden. Die Lichtquelle 29 sollte jedoch Licht mit Wellenlängen aussenden, die sich vom Licht der Laserdiode 21 unterscheidet.

Zumindest das Licht der Laserdiode 21 oder der Lichtquelle 29 sollte Fluoreszenz eines Fluorophors anregen können, wobei vorteilhaft jedoch beide Lichtquellen 21 und 29 Fluoreszenz jeweils eines Fluorophors gesondert anregen können.

Wird Licht mit zwei Fluoreszenz anregenden Wellenlän-

gen verwendet, sollte, auch hier nicht dargestellt,
ein zweiter optischer Detektor 27' für Fluoreszenz-
licht und ein zusätzliches Licht mit unterschiedli-
chen Fluoreszenzlichtwellenlängen räumlich voneinan-
5 der trennendes Element eingesetzt werden.

Ein Lösungsansatz hierfür kann Figur 6 entnommen wer-
den. Bei diesem Beispiel ist eine Lichtleitfaser 31
mit dem zusätzlichen Spektralfilter 26' und den bei-
10 den optischen Detektoren 27 und 27' vorhanden.

Bei dem Beispiel, wie es konkret in Figur 6 gezeigt
ist, ist aber auf eine zweite Lichtquelle 29 verzich-
tet worden. Um aber trotzdem Fluoreszenzlicht mit un-
terschiedlichen Wellenlängen zu detektieren, können
15 unterschiedliche Fluorophore, die mit annähernd glei-
cher Wellenlänge angeregt werden können, jedoch mit
unterschiedlichen Wellenlängen emittieren, eingesetzt
werden. Das Fluoreszenzlicht wird über den Kondensor
20 33 in die Lichtleitfaser 31 ein- und mittels des Kol-
lektors 32 ausgekoppelt und auf den wellenlängenspe-
zifisch und räumlich separierenden Spektralteiler 26'
gerichtet, mit dem das Fluoreszenzlicht unterschied-
licher Wellenlänge in separierter Form auf die beiden
25 optischen Detektoren 27 und 27' gerichtet werden
kann.

Bei dem in Figur 7 gezeigten Beispiel werden die bi-
nären, optisch detektierbaren Informationen einer In-
30 formationsstruktur 4, die innerhalb des Trägers 1 an-
geordnet ist, mittels einer Laserdiode 21, einem Po-
larisationsstrahlteiler 22, der $\lambda/4$ Platte 23 und dem
fokussierenden optischen Element 24 und dem optischen
Detektor 25 erfasst und können mit der bereits er-
35 wähnten Auswerte- und Steuerelektronik zur Steuerung
der Bewegung (Tracking) und zum anderen zur lokalen

Zuordnung von von fluorophormarkierten Proben ausgehenden Fluoreszenzsignalen genutzt werden.

5 Auf der gegenüberliegenden Seite des Trägers 1 ist eine zweite Optik, die ausschließlich zur Fluoreszenzanalyse genutzt wird, angeordnet. Bei dieser Vorrichtung wird wieder eine Lichtquelle 29, deren Licht Fluoreszenz eines Fluorophors anregen kann, auf einen Spektralfilter, der hier als dichroitischer Strahlteiler 30 ausgebildet ist, gerichtet und von dort
10 über ein weiteres fokussierendes optisches Element 24' auf fluorophormarkierte Proben, die hier innerhalb einer Oberflächenstruktur, die auf dem Träger 1 ausgebildet ist, angeordnet sind, gerichtet. Das
15 emittierte Fluoreszenzlicht gelangt über das fokussierende optische Element 24' durch den dichroitischen Strahlteiler 30, einen optischen Filter 28 auf den optischen Detektor 27 für das Fluoreszenzlicht. Die beiden oberhalb und unterhalb des Trägers 1 angeordneten optischen Teile können, wie dies in Figur 18
20 schematisch angedeutet ist, mechanisch starr miteinander verbunden und demzufolge synchron bewegt werden.

25 Wird jedoch eine zur Fluoreszenzanregung geeignete Laserdiode 21 und ein zumindest teilweise transparenter Träger 1 verwendet, kann gegebenenfalls bei dem in Figur 7 gezeigten Beispiel auf die zusätzliche Lichtquelle 29 und den dichroitischen Strahlteiler 30
30 verzichtet werden. Hierzu kann beispielsweise die Informationsstruktur 4 in Bereichen, in denen fluorophormarkierte Proben angeordnet sind, unterbrochen sein, so dass das Licht bis hin zur Probe gelangen kann.

35

Es besteht aber auch die Möglichkeit, die Informati-

onsstruktur 4 so auszubilden, dass sie zumindest teilweise transparent ist und lediglich ein bestimmter Anteil von der Informationsstruktur 4 reflektiert wird, der jedoch ausreicht, um die erforderlichen Informationssignale mit dem optischen Detektor 25 zu erfassen und der durch die Informationsstruktur 4 hindurchtretende Lichtanteil ausreicht, um Fluoreszenz anzuregen.

10 In den Figuren 8 bis 17 sind verschiedene Beispiele für den Aufbau von Trägern 1 und Anordnungen von Informationsstrukturen 3, 4 und Kavitäten 10 zur Aufnahme von fluorophormarkierten Proben dargestellt.

15 Das in Figur 8 dargestellte Beispiel eines Trägers 1 wird im Wesentlichen durch ein an sich transparentes Substrat 2, beispielsweise das für CD bzw. DVD typischerweise verwendete Polycarbonat gebildet ist. Auf der Oberfläche dieses Substrates 2 ist eine hochreflektierende Schicht in Form einer Informationsstruktur 3 ausgebildet, die von einer Kavität 10 zur Aufnahme von fluorophormarkierten Proben unterbrochen ist. In der Kavität 10 sind als Beispiel mehrere Biomoleküle 11 dargestellt. Oberhalb der die Informationsstruktur bildenden hochreflektierenden Schicht 3 ist eine Schutzschicht 5 ausgebildet, die optisch aus einem beliebigen Material bestehen kann.

30 Auf der oben liegenden Oberseite des Trägers 1 ist hier eine Deckschicht oder ein Deckel 12, mit der die Kavitäten 10 verschlossen werden können, angeordnet. Die Deckschicht oder der Deckel 12 können optisch transparent sein, wobei dies der Fall sein muss, wenn das Fluoreszenzlicht von der Oberseite detektiert werden soll.

35

In Figur 8 und den nachfolgenden Figuren ist außerdem das fokussierte Laserlicht 8 eingezeichnet.

Das in Figur 9 gezeigte Beispiel eines Trägers 1 unterscheidet sich vom Beispiel nach Figur 8 lediglich in der Anordnung der Kavität(en) 10 und der als teilweise reflektierenden Schicht ausgebildeten Informationsstruktur 4. Dabei ist die Kavität 10 oberhalb der Informationsstruktur 4 angeordnet und die teilweise reflektierende Schicht 4 gewährleistet, dass ein zur Fluoreszenzanregung ausreichender Teil in die Probe transmittiert und gleichzeitig ein ausreichender Lichtanteil an der Schicht 4 reflektiert werden kann, so dass auch aus diesem Bereich Informationen gewonnen werden können.

Dieser Sachverhalt trifft sinngemäß auch auf das in Figur 10 gezeigte Beispiel eines Trägers 1 zu, wobei hier die Kavität 10 innerhalb einer Deckschicht oder eines Deckels 12 ausgebildet ist.

Das in Figur 11 gezeigte Beispiel eines erfindungsgemäß verwendbaren Trägers 1 kann aus zwei Substraten 2 zusammengesetzt werden, die miteinander verbunden sind. Dabei sind in dem hier unten dargestellten Substrat 2 die Kavitäten 10 für die Aufnahme der fluorophormarkierten Proben mit den Biomolekülen 11 und die Informationsstruktur, hier als hochreflektierende Beschichtung 3 im darüber angeordneten Substrat 2 ausgebildet. Beide Substrate 2 können mit einem geeigneten Polymer, beispielsweise einer polymeren Schutzschicht 5 miteinander verbunden werden.

Figur 12 unterscheidet sich vom Beispiel nach Figur 11 lediglich dadurch, dass die Kavitäten 10 bis an die Informationsstruktur 3 heranreichen, was die An-

forderung an die Einstellbarkeit der Fokuslage des Laserstrahls 8 verringert und ohne Veränderung der Brennweite des fokussierenden optischen Elementes 24 sowohl die Informationen aus der Informationsstruktur 3, wie auch die Fluoreszenzsignale sehr genau ortsaufgelöst erfasst werden können.

Bei dem in Figur 13 gezeigten Beispiel eines Trägers 1 werden wiederum zwei Substrate 2 in miteinander verbundener Form verwendet, wobei die Kavitäten 10 zwischen den beiden Substraten 2 ausgebildet sind. In beiden Substraten ist jeweils eine Informationsstruktur 3, 4 ausgebildet. Dabei kann es sich entweder um eine teilweise reflektierende Schicht 4 oder eine hochreflektierende Schicht 3 handeln kann.

Dabei wurde in der dargestellten Form, also wenn das fokussierte Laserlicht 8 von unten in den Träger 1 fokussiert wird, die Informationsstruktur im unten angeordneten Substrat 2 teilweise reflektierend ausgebildet, so dass auch ein gewisser Anteil an Licht zur im oberen Substrat 2 ausgebildeten Informationsstruktur 3, die dann hochreflektierend sein sollte, gelangen und von dort entsprechend reflektiertes Licht vom optischen Detektor 25 erfasst werden kann, so dass sich die Anzahl an Informationen pro Fläche vergrößern lässt.

Bei den in den Figuren 13 bis 17 dargestellten Trägern 1 sind die jeweils beiden Substrate 2 mit einer Haftvermittlerschicht 7 verbunden.

Das Beispiel gemäß Figur 14 unterscheidet sich vom Beispiel nach Figur 13 durch eine spiegelsymmetrische Anordnung der beiden Substrate 2 und das Beispiel nach Figur 15 dadurch, dass die Kavitäten 10 aus-

schließlich innerhalb des dort oben angeordneten Substrates 2 angeordnet sind.

Die Beispiele nach den Figuren 16 und 17 verwenden wiederum lediglich eine einzige Informationsstruktur 3, 4, die innerhalb des oben angeordneten Substrates 2 ausgebildet ist und lediglich die Anordnung der Kavitäten 10, bei den in den Figuren 16 und 17 gezeigten Beispielen, differieren.

Bei den Beispielen für Träger 1, wie sie in den Figuren 13 bis 17 dargestellt sind, treten aber keine Pausen bei der Erfassung von Informationssignalen, die mit Hilfe der Informationsstrukturen 3, 4 gewonnen werden können, auf, wenn gleichzeitig Fluoreszenzsignale durch entsprechende Fluoreszenzanregung von Fluorophoren erfasst werden.

Mit Figur 19 soll eine Möglichkeit in schematischer Form angedeutet werden, die eine hochgradige Automatisierung der Probenvorbereitung und Probenauswertung ermöglicht.

Hierzu können unterhalb des Trägers 1 Beispiele einer erfindungsgemäßen Vorrichtung, wie sie in den Figuren 1 bis 6 gezeigt sind, eingesetzt werden. Oberhalb des Trägers 1 ist eine Dispensiereinrichtung für Proben angeordnet, die mit Hilfe der gewonnenen Informationssignale gesteuert werden kann, so dass mit hoher Präzision bezüglich der jeweiligen Position und des Volumens die Probenaufgabe erfolgen kann.

Bei der biochemischen Vorbereitung von Träger und Proben kann auf die an sich bekannten Erkenntnisse ohne weiteres zurückgegriffen werden, so dass die unterschiedlichsten biochemischen Wechselwirkungen er-

zielt und mit der erfindungsgemäßen Lösung nachgewiesen werden können.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Durchführung von biochemischen
Fluoreszenztests, bei der linear polarisiertes
5 Licht einer Laserdiode (21) durch eine aus mindestens einem Polarisationsstrahlteiler (22),
einer $\lambda/4$ Platte (23) und einem fokussierenden
optischen Element (24) bestehenden optischen An-
ordnung (A) auf einen plattenförmigen Träger (1)
10 gerichtet ist,

der um eine Achse rotierende Träger (1) mit bi-
nären, optisch detektierbaren Informationsstruk-
turen (3, 4) versehen ist und auf der Oberfläche
15 und/oder im inneren des Trägers (1) eine Mehr-
zahl fluorophormarkierter Proben diskret ange-
ordnet sind;

von den Informationsstrukturen (3, 4) reflek-
20 tiertes Licht durch die optische Anordnung (A)
zur Erfassung der Informationen auf einen opti-
schen Detektor (25) gerichtet ist und

von fluorophormarkierten Proben emittiertes
25 Fluoreszenzlicht über einen wellenlängenselektiv
und räumlich separierenden Spektralfilter (26)
auf einen optischen Detektor (27) für das Fluo-
reszenzlicht gerichtet ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1,
30 dadurch gekennzeichnet, dass der Spektralfilter
(26) ein mit einer λ -Kurz-Pass-Beschichtung ver-
sehenen dichroitischer Strahlteiler ist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, dass der Spektralfilter

(26) oder der Polarisationsstrahlteiler (22) mit einer λ -Lang-Pass-Beschichtung versehen ist.

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen Spektralfilter (26) und optischem Detektor (27) für das Fluoreszenzlicht ein optisches Filter (28) angeordnet ist.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Spektralfilter (26) und der optische Detektor (27) für das Fluoreszenzlicht auf der der optischen Anordnung (A) gegenüberliegenden Seite des Trägers (1) angeordnet ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Spektralfilter (26) integraler Bestandteil der optischen Anordnung (A) ist.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass eine zweite Lichtquelle (29) zur Fluoreszenzanregung vorhanden ist;

das Licht dieser Lichtquelle (29) mittels eines zweiten dichroitischen Strahlteilers (30) auf den Träger (1) gerichtet ist, wobei sich die Lichtstrahlen der Laserdiode (21) und der Lichtquelle (29) überlagern.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Brennweite des fokussierenden Elementes (24) veränderbar ist.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Erfassung der

optischen Informationssignale und des Fluoreszenzlichtes von der Laserdiode (21) und/oder der Lichtquelle (29) konfokal erfolgt.

- 5 10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet, dass das Fluoreszenzlicht über eine Lichtleitfaser (31) auf mindestens einen optischen Detektor (27, 27') gerichtet ist.
- 10 11. Vorrichtung nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet, dass aus der Lichtleitfaser (31) austretendes Fluoreszenzlicht über einen wellenlängenselektiv und räumlich separierenden Spektralfilter (26') auf jeweils einen optischen Detektor (27 oder 27') gerichtet ist.
- 15 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet, dass zumindest die Laserdiode (21) mit optischer Anordnung (A) und Spektralfilter (26) lateral in radialer Richtung in Bezug zur Rotationsachse des Trägers (1) bewegbar und die Bewegung in Abhängigkeit der mit dem optischen Detektor (25) vom Träger (1) erfassten Informationen mittels einer elektronischen Auswerte- und Steuereinheit steuerbar und die Fluoreszenzsignale orts aufgelöst erfassbar
20
25 sind.
- 30 13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, dass mit der elektronischen Auswerte- und Steuereinheit in Abhängigkeit der vom Träger (1) erfassten Informationen die Brennweite des fokussierenden optischen Elementes (24) zur Anregung und Erfassung von Fluoreszenz der fluorophormarkierten Proben einstellbar ist.

14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch gekennzeichnet, dass mittels einer an
die elektronische Auswerte- und Steuereinheit
angeschlossenen Dispensiereinrichtung (34) die
5 einzelnen Proben orts aufgelöst auf den Träger
(1) aufgebracht oder in im Träger (1) ausgebil-
dete Kavitäten (10) oder Kanäle eingebracht wer-
den.
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (1) eine
10 für die Aufnahme von Proben modifizierte CD oder
DVD ist.
16. Verfahren zur Durchführung von biochemischen
Fluoreszenztests mit einer Vorrichtung nach ei-
nem der Ansprüche 1 bis 15,
15 bei dem mittels der von auf bzw. im Träger (1)
ausgebildeten Informationsstrukturen (3, 4) er-
fassten Signalen eine orts aufgelöste und/oder
eine unmittelbare Zuordnung von erfasstem Fluo-
reszenzlicht jeweils einer fluorophormarkierten
20 Probe durchgeführt wird.
17. Verfahren nach Anspruch 16,
dadurch gekennzeichnet, dass vor der Durchfüh-
rung von Fluoreszenztests die optisch detektier-
baren Informationsstrukturen (3, 4) des Trägers
25 (1) zur Steuerung einer Dispensiereinrichtung
(34) für die diskrete Aufgabe von Proben auf
bzw. in den Träger (1) benutzt werden.
18. Verfahren nach Anspruch 16 oder 17,
dadurch gekennzeichnet, dass die Fluoreszenz-
30 tests der einzelnen fluorophormarkierten Proben
unter Berücksichtigung der von den Informations-
strukturen (3, 4) erfassbaren Ortskoordinaten

und/oder einer fluorophormarkierten Probe zugeordneten Informationen durchgeführt wird.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 18,
dadurch gekennzeichnet, dass mit der elektroni-
5 schen Auswerte- und Steuereinheit die Brennweite
des fokussierenden optischen Elementes (24) so
eingestellt wird, dass Licht zur Anregung von
Fluoreszenz der Laserdiode (21) und/oder der
Lichtquelle (29) auf eine fluorophormarkierte
10 Probe fokussiert wird.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 16 bis 19,
dadurch gekennzeichnet, dass von fluorophormar-
kierten Proben emittiertes Fluoreszenzlicht mit-
tels eines wellenlängenselektiv und räumlich se-
15 parierenden Spektralfilters (26) vom fluores-
zenzanregenden Licht getrennt und auf einen op-
tischen Detektor (27) für das Fluoreszenzlicht
gerichtet wird.

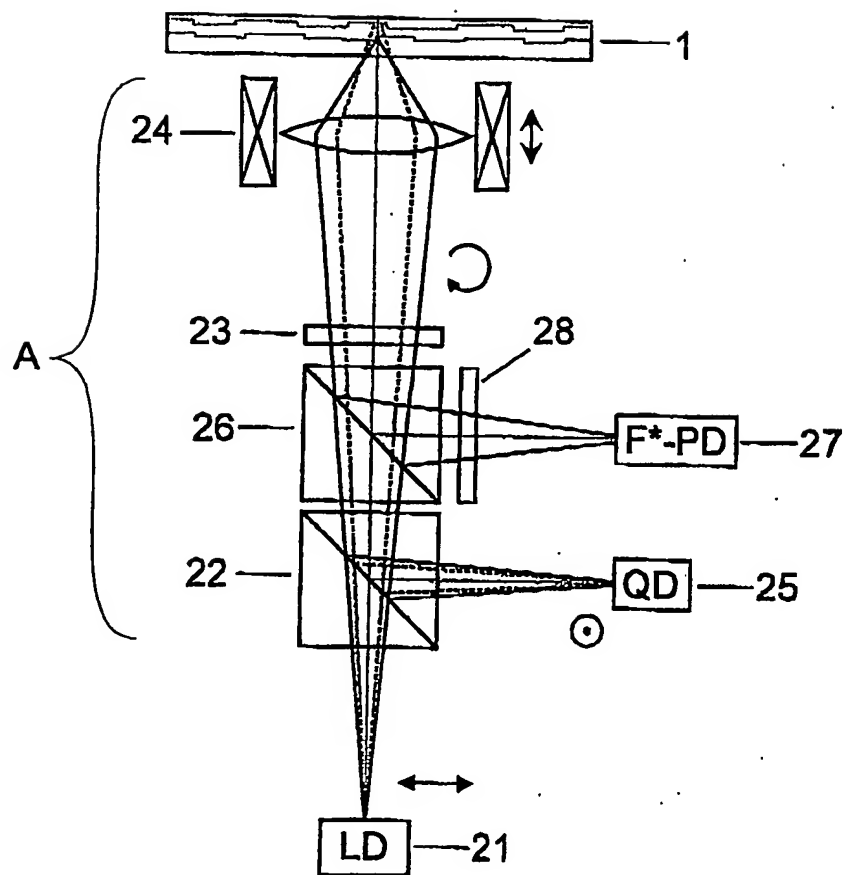


Fig. 1

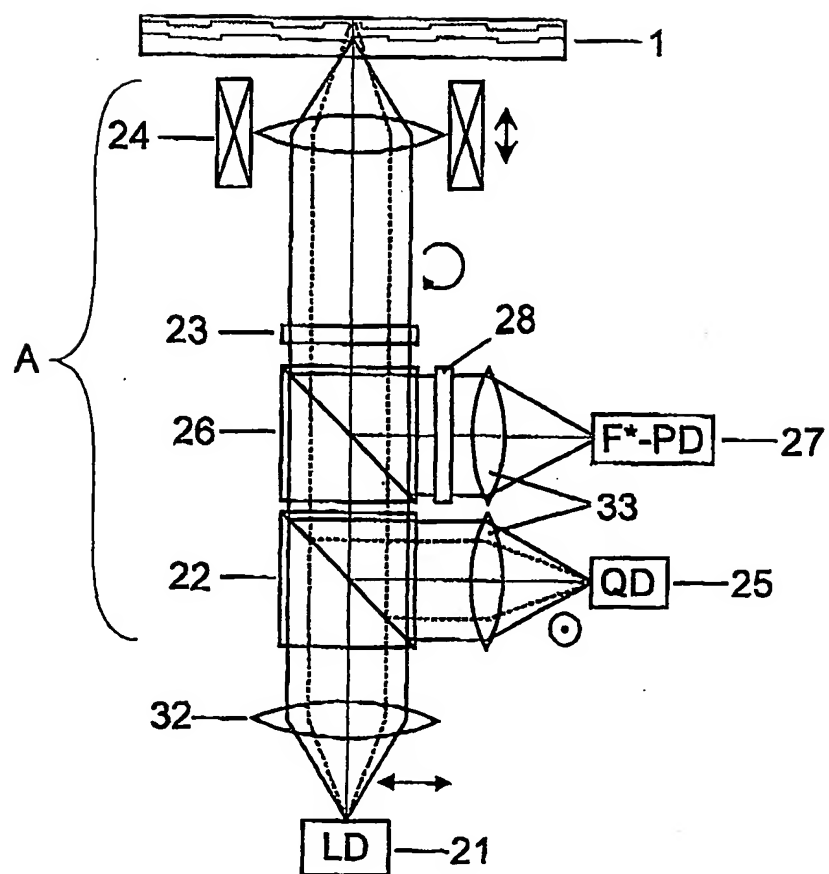


Fig. 2

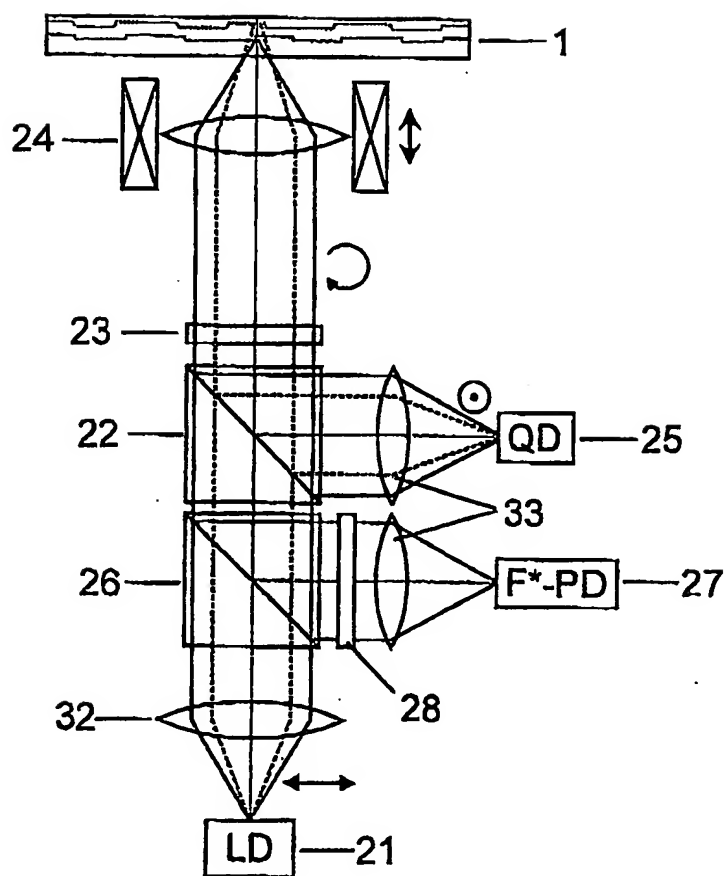


Fig. 3

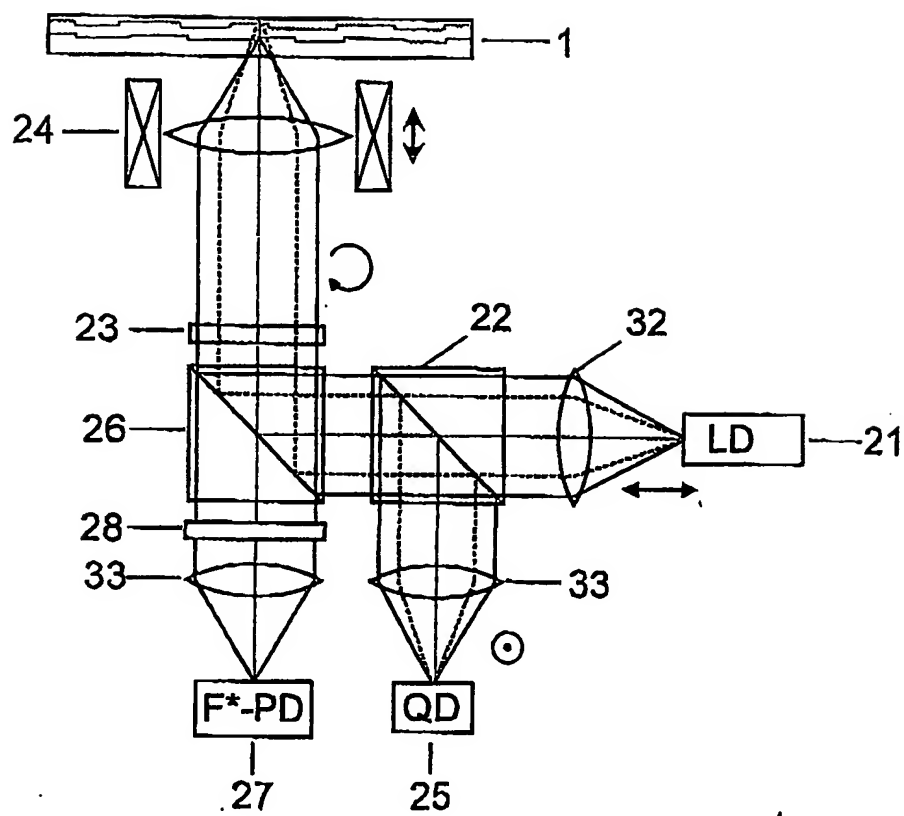


Fig. 4

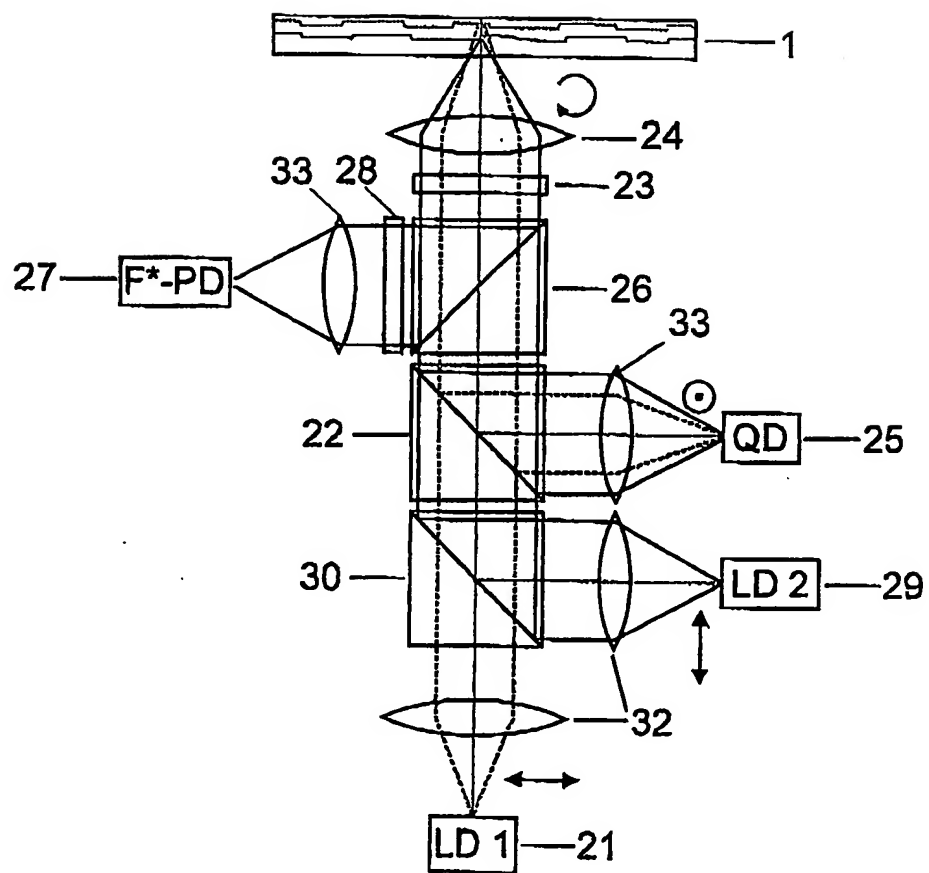


Fig. 5

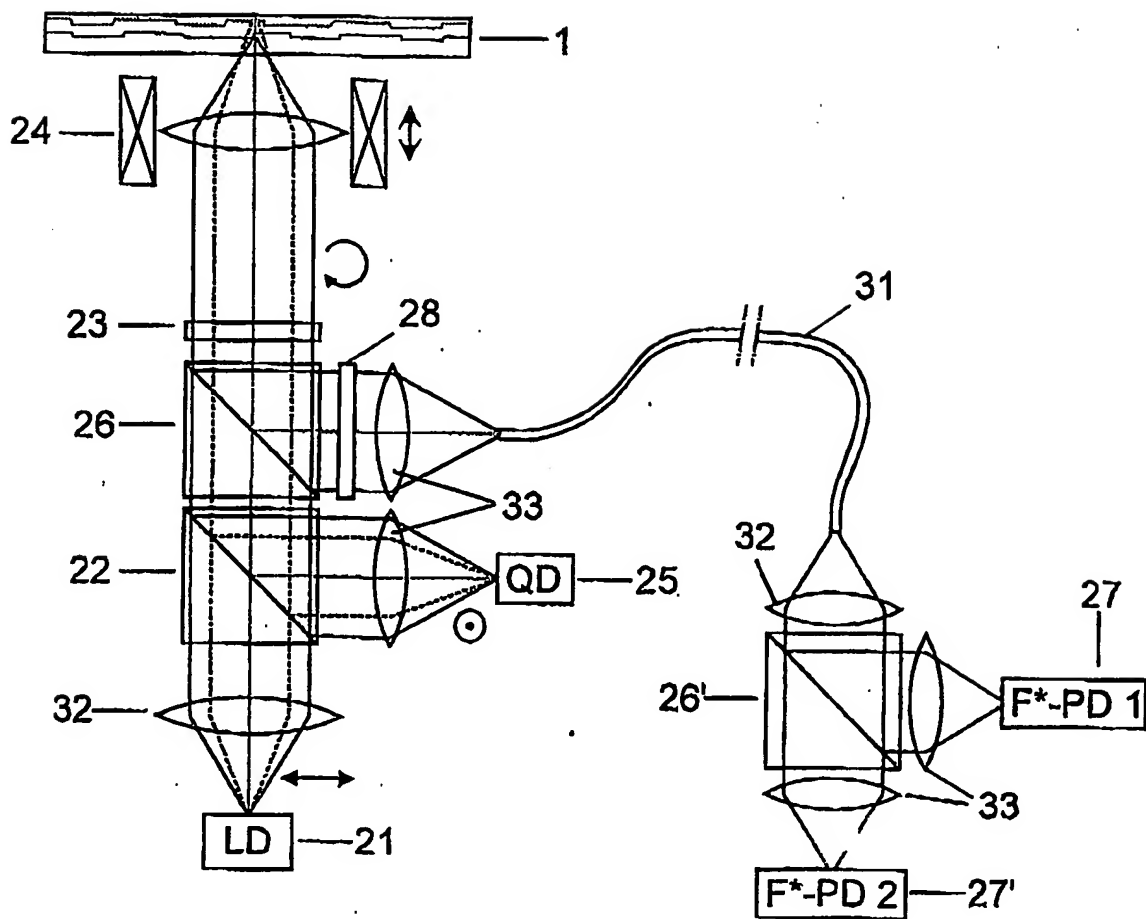


Fig. 6

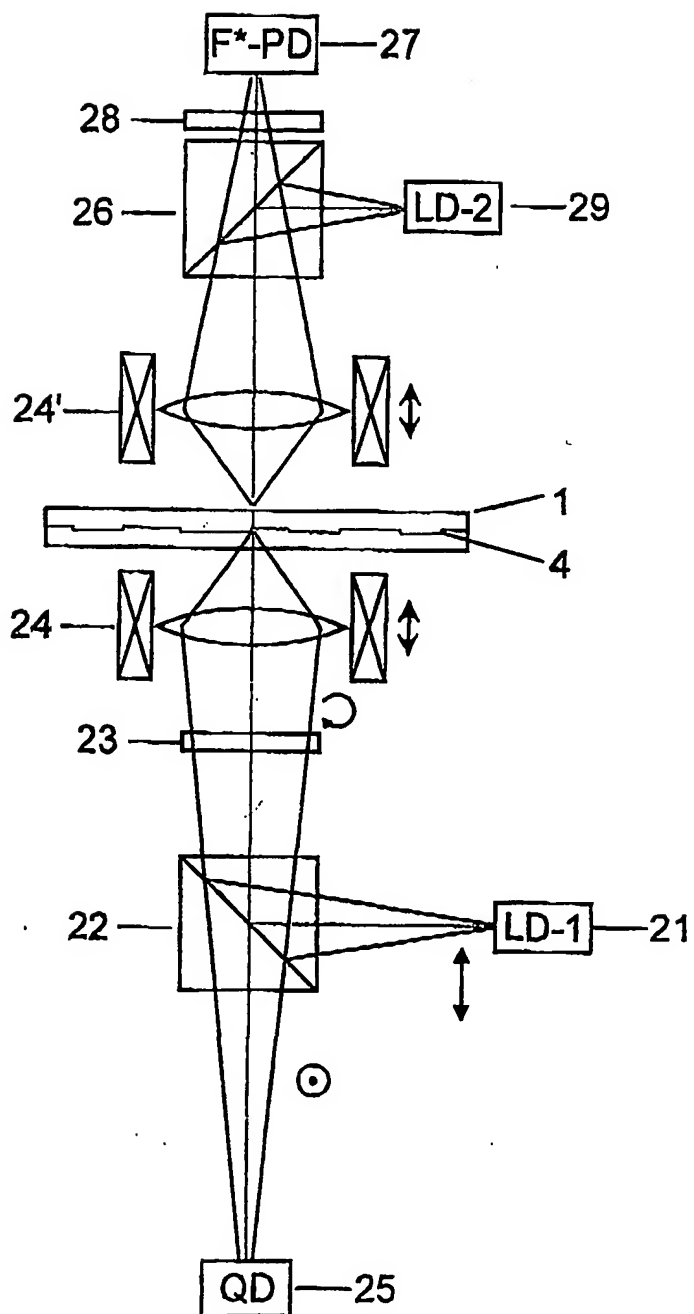


Fig. 7

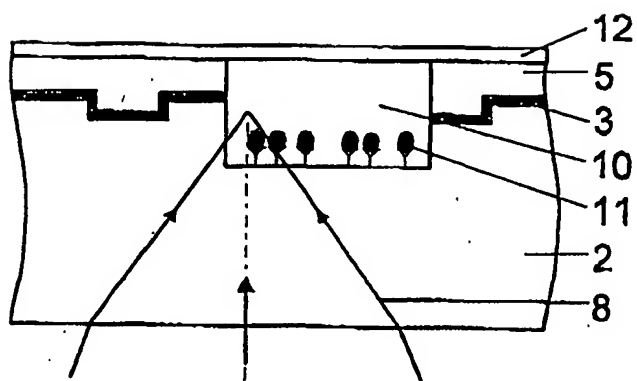


Fig. 8

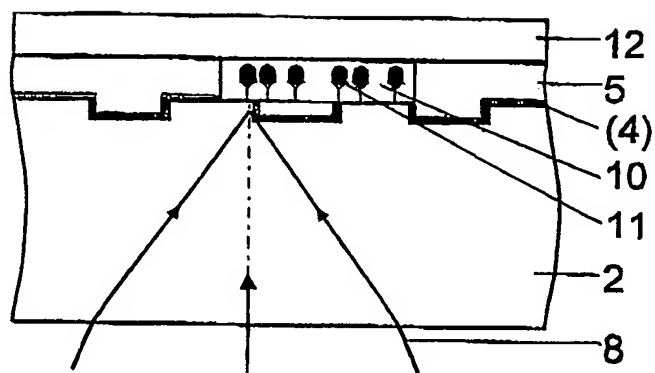


Fig. 9

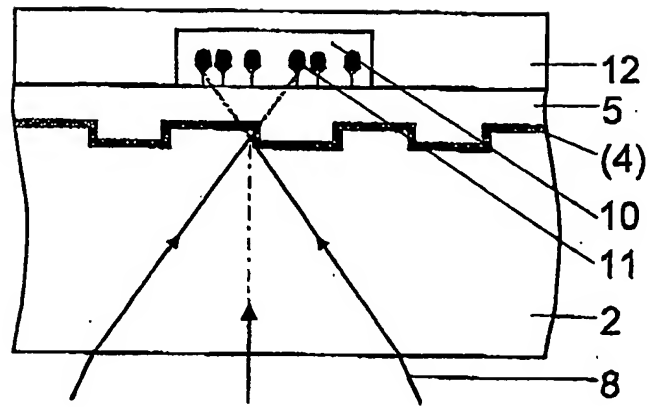


Fig. 10

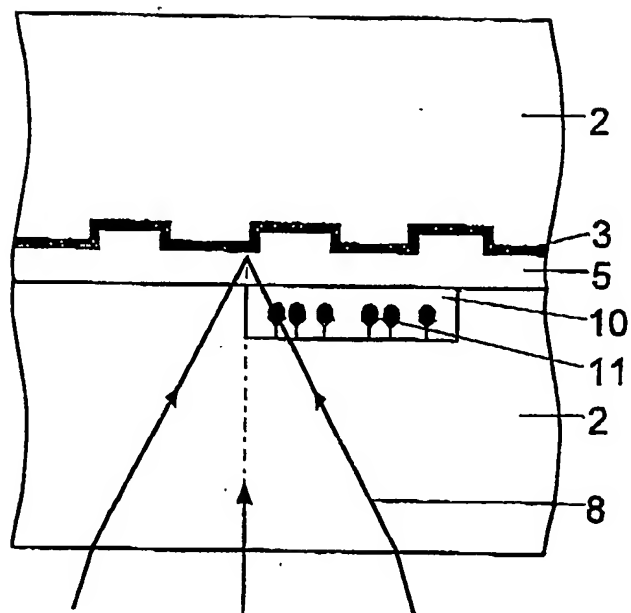


Fig. 11

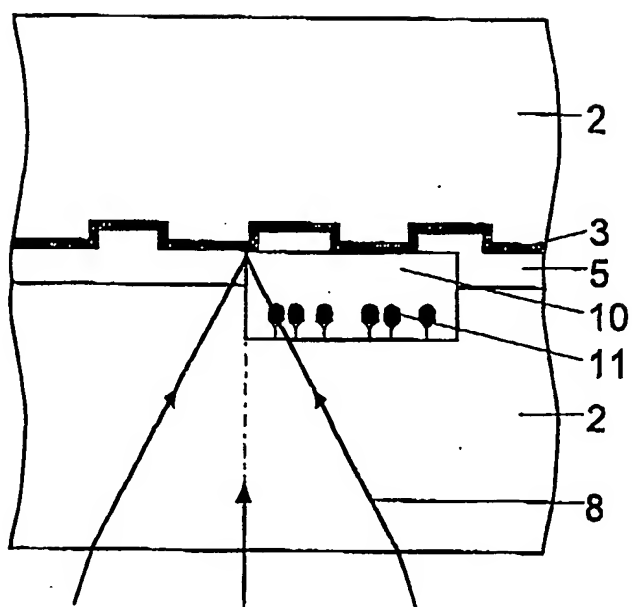


Fig. 12

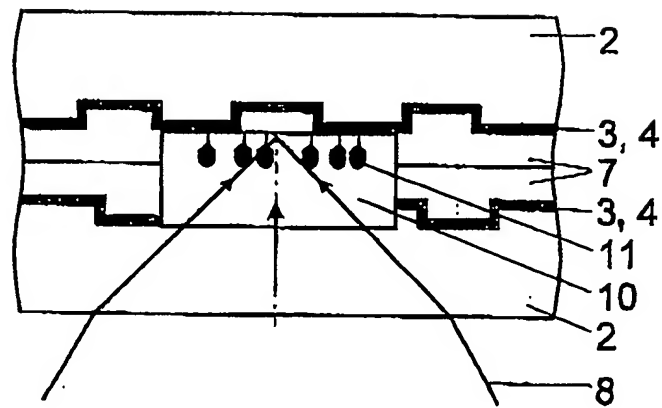


Fig. 13

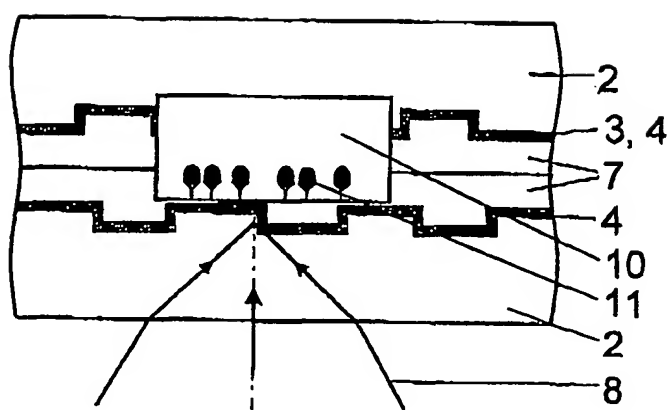


Fig. 14

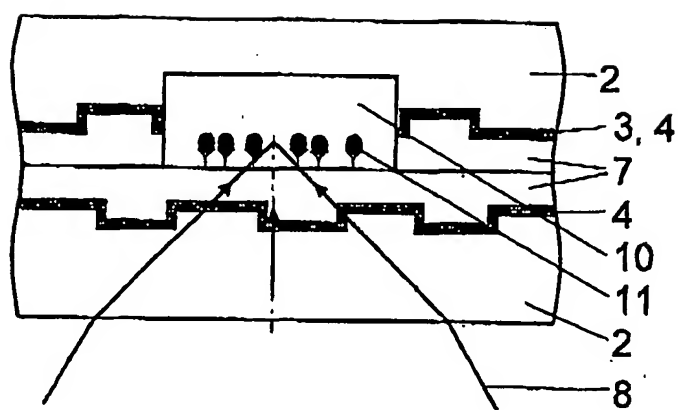


Fig. 15

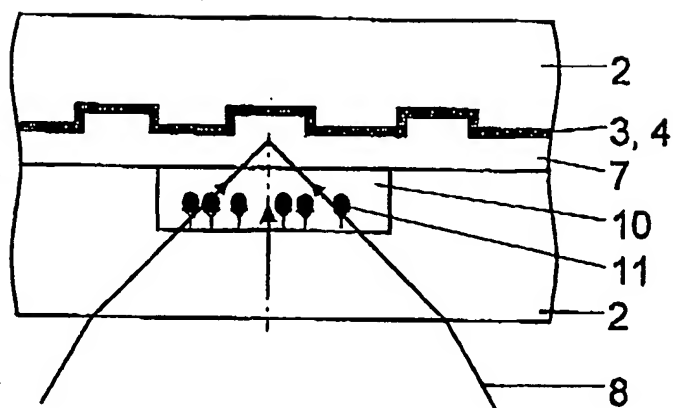


Fig. 16

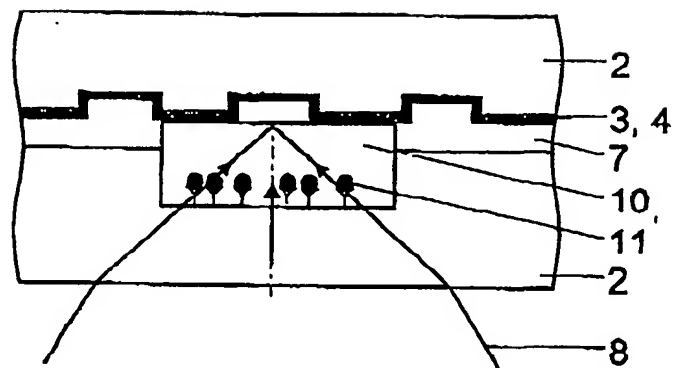


Fig. 17

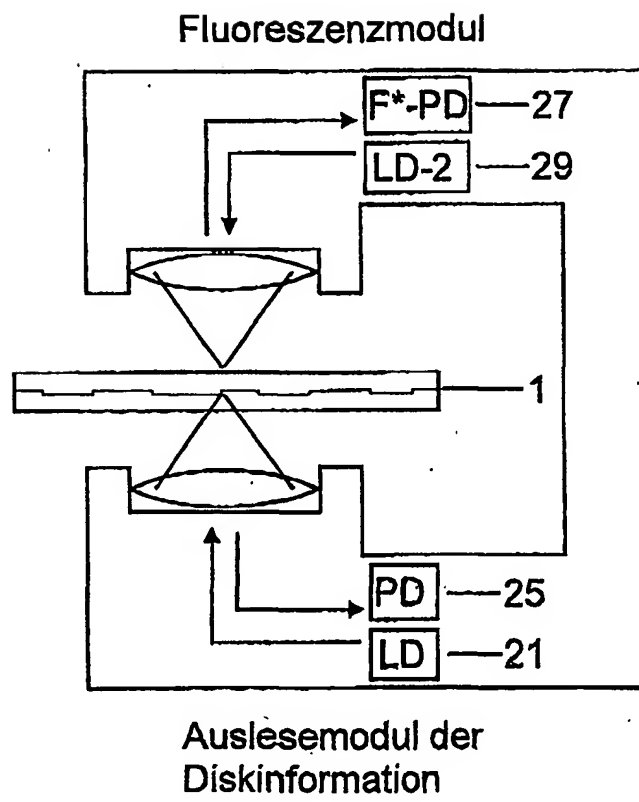
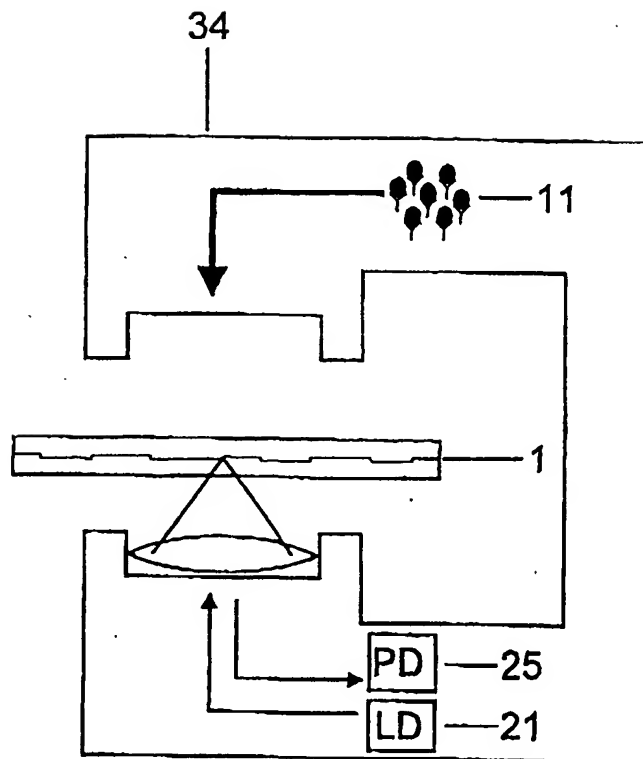


Fig. 18



Auslesemodul der
Diskinformation

Fig. 19

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.